

· 基础研究 ·

丹镁合剂对兔腰椎间盘突出症模型动物血清 IgG、IgM 的影响

李智斌,袁普卫,朱超

(陕西中医学院附属医院骨科,陕西 咸阳 712000)

【摘要】 目的:探讨丹镁合剂对自身免疫引起的炎症反应的影响。方法:60 只日本大耳白兔按照随机数字表法分为空白组(10 只),假手术组(10 只),造模组(40 只)。对造模组大耳白兔制造腰椎间盘突出模型,待造模成功后,造模组 40 只兔子再随机分成 4 组:模型组(A 组,10 只),生理盐水组(B 组,10 只),七叶皂甙钠组(C 组,10 只),丹镁合剂组(D 组,10 只)。生理盐水组耳缘静脉给予生理盐水(5 ml/kg);七叶皂甙钠组耳缘静脉给予七叶皂甙钠(0.5 mg/kg);丹镁合剂组耳缘静脉给予丹镁合剂(2.0 ml/kg);共连续给药 14 d。空白组、假手术组及模型组未予给药。应用 ELISA 法观察不同药物对免疫反应和炎症反应的影响。结果:模型组 IgG、IgM 明显高于空白组与假手术组($P<0.05$);丹镁合剂组血清中 IgG、IgM 含量明显降低,与七叶皂甙钠组和生理盐水组比较有明显的统计学意义($P<0.05$)。结论:丹镁合剂可以明显抑制腰椎间盘突出症自身免疫反应,这为临床治疗椎间盘突出症提供了一种新的治疗选择。

【关键词】 腰椎; 椎间盘移位; 自身免疫; 免疫球蛋白 G; 免疫球蛋白 M

Effect of the mixed liquor of *danshen* (丹参) and magnesium sulfate injection on IgG and IgM in serum of rabbits with lumbar intervertebral disc herniation LI Zhi-bin, YUAN Pu-wei, ZHU Chao. Department of Orthopaedics, the Affiliated Hospital of Shaanxi College of TCM, Xianyang 712000, Shaanxi, China

ABSTRACT Objective: To explore the effect of the mixed liquor of *danshen* (丹参) and magnesium sulfate injection on inflammatory reaction caused by autoimmune response of rabbits with lumbar intervertebral disc herniation. **Methods:** Sixty rabbits were divided into blank group (10 rabbits), sham operation group (10 rabbits), model group (40 rabbits) according to method of random digits table. Then model group was divided into made group (group A, 10 rabbits), normal saline group (group B, 10 rabbits), aescin natrium group (group C, 10 rabbits) and *danshen* (丹参) and magnesium sulfate injection group (group D, 10 rabbits). After model success of lumbar intervertebral disc herniation, different drugs were given to rabbits with lumbar intervertebral disc herniation by ear margin vein. The rabbits of the group C, B, D were respectively given aescin natrium (0.5 mg/kg), normal saline (5 ml/kg), *danshen* (丹参) and magnesium sulfate injection (2.0 mg/kg). The rabbits of blank group, sham operation group and group A were not given any disposal. The IgG and IgM level in serum of different groups were determined with ELISA method in fourteen day after model success and drugs given. **Results:** The level of IgG and IgM in the group A was higher than that of blank group and sham operation group ($P<0.05$). The level of IgG and IgM in the group D was lower than that of group B, C ($P<0.05$). **Conclusion:** The mixed liquor of *danshen* (丹参) and magnesium sulfate injection could inhibit inflammatory reaction caused by autoimmune response of lumbar intervertebral disc herniation, which provides a new alternative for lumbar intervertebral disc herniation.

Key words Lumbar vertebrae; Intervertebral disk displacement; Autoimmunity; Immunoglobulin G; Immunoglobulin M
Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2009, 22(10): 773-775 www.zggszz.com

人们常常把腰椎间盘突出症患者出现的腰腿痛等神经损害症状归为突出椎间盘的机械压迫。但临床工作常常面临这样的问题:①轻度的椎间盘突出可造成明显的腰腿痛,而重度的突出有时却仅有轻度的临床表现。②有时手术解除压迫因素后,临床症状无明显改善,甚至反而加重。③采用抗炎治疗可使许多患者的临床症状明显缓解,虽然压迫继续存在。④部

分没有任何症状的成年人影像学检查却发现明显的椎间盘突出^[1]。近年来研究表明,在麻木、根性疼痛等神经行为的改变中,炎症反应起了更加重要的作用,引起这种炎症的原因包括机械性压迫、髓核化学性物质的刺激,近年来自身免疫反应引起炎症反应逐渐受到人们的重视。丹镁合剂(丹参注射液与硫酸镁注射液联合运用)是我们精心筛选并经过 10 多年的临床应用,未发现不良反应的有效方剂。本实验在总结中西医结合治疗腰椎间盘突出症经验的基础上探讨丹镁合剂对腰椎间盘突出

出症自身免疫反应的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 健康 4~5 月龄日本大耳白兔 60 只,雌雄不限,质量 2.0~2.5 kg,由西安交大医学院动物实验中心提供。将 60 只兔子按照随机数字表法随机分为 3 组:空白组(10 只),假手术组(10 只),造模组(40 只)。待造模成功后,将造模组 40 只兔子再按照随机数字表法随机分成 4 组:模型组(10 只),生理盐水组(10 只),七叶皂甙钠组(10 只),丹镁合剂组(10 只)。

1.2 主要药物和试剂 丹参注射液:神威药业股份有限公司生产(国药准字 Z13020777)。25%硫酸镁注射液:武汉滨湖双鹤药业有限责任公司生产(国药准字 H42020156)。丹镁合剂是由丹参注射液 10 ml (1 支)和 25%硫酸镁注射液 10 ml(1 支)于使用前混合而成。兔 IgG 免疫组化试剂盒和兔 IgM 免疫组化试剂盒:试剂盒均由武汉博士德生物科技有限公司提供。

1.3 兔腰椎间盘突出症模型的建立 空白组不做任何处理。假手术组做如下处理:20%乌拉坦溶液(1 000~1 200 mg/kg),耳缘静脉麻醉,常规备皮消毒铺无菌巾,两侧髂棘最高点连线中点平对 L_{6,7} 椎间隙,以此间隙为中心正中切开皮肤,分离肌肉,暴露椎板,咬骨钳咬除棘突及两侧部分椎板暴露硬膜囊,逐层缝合软组织。造模组做如下处理:20%乌拉坦溶液(1 000~1 200 mg/kg)耳缘静脉麻醉,常规备皮消毒铺无菌巾,两侧髂棘最高点连线中点平对 L_{6,7} 椎间隙,于后正中线左侧旁开 2 cm 处依次切开皮肤至皮下筋膜,分离肌层,暴露椎板,以咬骨钳咬除左侧 L₆ 椎板下半以及 L₇ 椎板上半,显露 L₇ 神经根,以神经剥离子小心将其向中线稍稍推移(注意勿损伤神经根)。用刀锋为 1.5 mm 的小针刀在 L_{6,7} 椎间盘后外侧纤维环上钻孔,觉针刀下有突破感时表明已穿透纤维环到达髓核,立即退针以免髓核组织外溢,如此可使髓核组织可通过渗漏而与硬膜外腔相通。局部喷洒含庆大霉素生理盐水 2 ml(庆大霉素 16 万 U/生理盐水 250 ml)以防感染,逐层缝合各层组织和皮肤,并以乙醇纱布擦拭伤口后局部涂抹适量 1%红霉素软膏并以乙醇纱布覆盖,包扎固定。于术后经肌肉注射长效青霉素,以进一步控制术后感染的发生。

1.4 给药方法 造模成功后,空白组、假手术组、模型组均不给药物,生理盐水组兔耳缘静脉给予生理盐水(5 ml/kg),七叶皂甙钠组耳缘静脉给予七叶皂甙钠(0.5 mg/kg),丹镁合剂组兔耳缘静脉给予丹镁合剂(2.0 ml/kg),丹镁合剂使用前配制而成。每天早晨 8 时给药,连续给药 14 d。

1.5 观察项目及指标 造模后 14 d 和用药后 14 d,空白组、假手术组、模型组、生理盐水组、七叶皂甙钠组、丹镁合剂组各组实验动物经兔耳缘静脉抽取 5 ml 静脉血,静置 1 h 后,离心机离心血液,取上清液 1 ml,按照各个试剂盒中操作说明,采用 ELISA 方法检测各组 IgG、IgM 的含量。

1.6 统计学处理 采用 SPSS 12.0 软件进行统计处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较行方差分析,两两比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模后各组血清中 IgM 及 IgG 含量变化 见表 1,造模后 14 d,空白组与假手术组 IgM、IgG 差异无统计学意义($P >$

0.05);模型组和空白组、假手术组之间差异有统计学意义($P < 0.05$),说明血清中各指标含量的增高是由椎间盘突出引起的,排除了因为损伤(摘除椎板)引起血清中各指标含量的增高,从数据可以得出结论:本实验造模成功。

2.2 用药后各组血清中 IgM 及 IgG 含量变化 见表 2,丹镁

表 1 造模后 14 d 各组 IgM、IgG 血清含量($\bar{x} \pm s$, mg/dL)

Tab.1 The level of IgM and IgG in serum at 14th day after model success($\bar{x} \pm s$, mg/dL)

组别	动物数	IgM	IgG
空白组	10	15.76±0.55	3.35±0.22
假手术组	10	15.92±0.36 [△]	3.49±0.14 [△]
模型组(A)	10	16.97±0.30*	3.77±0.13**

注:与空白组比较,[△] $P > 0.05$;与空白组和假手术组比较,* $F = 15.23, P < 0.05$;** $F = 15.38, P < 0.05$

Note:Compared with black group, [△] $P > 0.05$. Compared with black group and sham operation group, * $F = 15.23, P < 0.05$; ** $F = 15.38, P < 0.05$

合剂组血清中 IgG、IgM 含量明显降低,与生理盐水组和七叶皂甙钠组比较有统计学意义($P < 0.05$)。说明丹镁合剂比七叶皂甙钠静脉注射治疗腰椎间盘突出治疗效果明显。

表 2 用药后 14 d 各组 IgM、IgG 血清含量($\bar{x} \pm s$, mg/dL)

Tab.2 The level of IgM and IgG in serum at 14th day after treatment($\bar{x} \pm s$, mg/dL)

组别	动物数	IgM	IgG
生理盐水组(B)	10	16.91±0.21	3.74±0.11
七叶皂甙钠组(C)	10	16.48±0.36	3.42±0.18
丹镁合剂组(D)	10	15.89±0.52*	3.09±0.20 [△]

注:与生理盐水组和七叶皂甙钠组比较,* $F = 16.36, P < 0.05$;[△] $F = 16.23, P < 0.05$

Note:Compared with group B, C, * $F = 16.36, P < 0.05$; [△] $F = 16.23, P < 0.05$

3 讨论

3.1 腰椎间盘突出症 IgG、IgM 含量变化及意义 腰椎间盘突出症患者神经根炎症的主要来源之一为自身免疫反应引起的炎症反应。人们已经从腰椎间盘突出症患者和动物模型的血浆中分离出抗髓核组织的抗体,腰椎间盘突出症患者突出组织中存在抗原抗体复合物^[2],证明存在自身免疫反应。这种免疫反应主要表现在腰椎间盘突出症患者外周血中 IgG、IgM 含量增高。抗原抗体形成免疫复合物激活补体,吸引中性粒细胞等炎性细胞聚集并产生炎性递质,造成局部炎症。炎性递质可增加血管通透性,促进巨噬细胞吞噬抗原抗体复合物。在吞噬过程中释放溶酶体性蛋白酶,其中包括弹性蛋白酶和胶原酶等。分解蛋白聚糖,打破胶原平衡,降解胶原分子,使纤维环出现裂隙和断裂,改变了生物力学状态,造成组织损伤。以上病理过程都可导致或加重椎间盘的退行性变、突出和腰腿痛。

3.2 丹镁合剂对腰椎间盘突出症的治疗机制 腰椎间盘突出症由于局部无菌性炎症,表现为神经根组织水肿、渗出增多。治疗的关键是消除神经根组织水肿,解除无菌性炎症^[3-4]。丹参注射液,具有良好的活血化瘀作用,可改善局部微循环和组织水肿、缺氧等病理状态,促使局部渗液吸收,减轻水肿,加

· 手法介绍 ·

手法整复小夹板固定治疗闭合性胫骨骨折

范寿华

(江安县人民医院骨科, 四川 宜宾 644200)

关键词 胫骨骨折; 正骨手法; 小夹板固定**Manipulative reduction and small splint fixation for the treatment of closed tibial fractures** FAN Shou-hua. Department of Orthopaedics, the People's Hospital of Jiangnan County, Yibin 644200, Sichuan, China**Key words** Tibial fractures; Bone setting manipulation; Small splint fixation

Zhongguo Gushang/China J Orthop & Trauma, 2009, 22(10): 775-776 www.zggszz.com

胫骨骨折临床上较常见,好发于胫骨中下 1/3 部位,上 1/3 比较少,有时可合并腓骨骨折。可发生于任何年龄,多见于儿童和青壮年。在暴力的作用下常合并有软组织损伤。目前随着西医骨科内固定的普及,很多医院都选择了手术内固定,放弃了手法整复术以及外固定术。自 1996 年 1 月至 2006 年 12 月,采用手法整复小夹板外固定术,配合踝关节牵引中立位固定术治疗闭合性胫骨骨折 104 例,疗效满意,现总结

告如下。

1 临床资料

本组 104 例,男 74 例,女 30 例;年龄 8~46 岁,平均 27.5 岁;右侧 62 例,左侧 42 例。致伤原因:车祸伤 18 例,高处坠落伤 12 例,其他损伤 74 例。按骨折程度:横形骨折 35 例,粉碎性 16 例;因骨折线方向不同分:纵形 8 例,斜形 26 例,螺旋形 19 例。受伤至手法整复时间 0~6 d,平均 3 d。

速酸性代谢物排泄,使存积于炎症区域的病理致痛化学性介质消除,从而减轻致痛物质对神经根刺激,解除痉挛,促进组织修复^[5-6]。丹参注射液有明显的免疫调节作用,主要是通过它对抗体及免疫复合物、细胞因子、免疫细胞的作用而发挥免疫调节作用^[7-8]。

镁离子在体内参与多项功能活动,作为 300 多种酶的辅助因子,在许多至关重要的酶代谢中起作用,可能对巨噬细胞吞噬抗原抗体复合物过程中释放溶酶体性蛋白酶有一定的抑制作用,但目前尚缺乏依据,需要进一步研究;一些研究显示镁离子为钙离子通道阻滞剂,它以各种不同的方式抑制钙离子通过细胞膜,并与钙离子竞争结合位点,改变腺苷酸环化酶的活性,影响血管平滑肌细胞内的钙离子浓度,从而发挥血管扩张效应,通过其炎症局部的血管扩张作用发挥抗炎作用^[9];同时镁离子作为钙离子通道阻滞剂,也是一种有效的镇痛剂;25%硫酸镁注射液作为高渗液也具有脱水作用。基于以上两种药物不同的药理作用,将两种药物联合应用观察其在腰椎间盘突出症中的疗效。

3.3 丹镁合剂对腰椎间盘突出后 IgG、IgM 表达变化的影响

本实验结果显示,丹镁合剂组动物血清中 IgG、IgM 含量明显较空白组和七叶皂甙钠组降低,统计处理后显示这种差异具有统计学意义($P < 0.05$),说明丹镁合剂有明显的调节免疫和抗炎作用。从药理机制来分析,丹镁合剂在免疫调节方面发挥着重要的作用,一方面通过免疫调节降低了血清中 IgG 和 IgM 的含量,另一方面通过调节免疫发挥了抗炎作用。丹参注射液和硫酸镁注射液联合应用有协同作用,可加强消除神经

根组织水肿,解除无菌性炎症的作用,达到治疗目的,提示这是一种疗效确切、不良反应小的治疗方案,这为临床治疗椎间盘突出症提供了一种新的思路。

参考文献

- [1] Boden SD, Davis DO, Dina TS, et al. Abnormal Magnetic resonance scans of the lumbar spine in asymptomatic subjects. A prospective investigation. *J Bone Joint Surg (Am)*, 1990, 72(3): 403-408.
- [2] Satoh K, Konno S, Nishiyama K, et al. Presence and distribution of antigen-antibody complexes in the herniated nucleus pulposus. *Spine*, 1999, 24(19): 1980-1984.
- [3] 张维斌, 王佳福, 尹兆光, 等. 地甘输液疗法治疗急重症根性坐骨神经痛 350 例. *中国骨伤*, 2001, 14(4): 225.
- [4] 周临东. 丹甘输液疗法治疗急重症根性坐骨神经痛. *中国骨伤*, 1998, 11(1): 22.
- [5] 袁民, 徐玉珍. 丹参注射液穴位注射治疗腰痛 55 例. *安徽中医学院学报*, 1998, 17(5): 43.
- [6] 刘晋闽, 陈建炜, 王小明. 川芎、丹参注射液液压扩张治疗“冻结肩”的临床疗效观察. *中国骨伤*, 2002, 15(10): 610-611.
- [7] 王钢, 刘世清, 陶海鹰. 丹参与神经生长因子对脊髓损伤保护作用的实验研究. *中国中医骨伤科杂志*, 2004, 12(4): 5-7.
- [8] 冯德荣, 黄迪南. 腰椎间盘突出症康复治疗对血小板活化的影响. *中华理疗杂志*, 1999, 22(1): 20-21.
- [9] 李智斌, 种清治, 李孟, 等. 丹镁输液疗法治疗颈椎病 130 例临床观察. *中国中医骨伤科杂志*, 2004, 12(1): 9-11.

(收稿日期: 2009-06-16 本文编辑: 王宏)